

Celule BRL | 305193

Informații generale

Description

Linia celulară Buffalo Rat Liver (BRL), o linie imortalizată spontan din țesutul hepatic de șobolan Buffalo, are o valoare semnificativă datorită menținerii pluripotenței și a normalității cariotipice asemănătoare celulelor stem embrionare (ES). Celulele BRL produc un mediu condiționat (BRL-CM) care are o aplicație unică în biologia celulelor stem; acesta inhibă diferențierea carcinomului embrionar (EC) stabilit și a liniilor de celule ES. Această proprietate permite menținerea acestor celule stem într-o stare nediferențiată fără a fi nevoie de celule de hrănire, deși acest suport este viabil doar pentru o perioadă finită, evidențiind o limitare a utilității BRL-CM în cultura de celule stem pe termen lung.

În plus, linia celulară BRL oferă un model interesant pentru studierea impactului modificărilor genetice asupra comportamentului celular, ilustrat de răspunsul diferențiat al celulelor BRL normale față de cele transformate cu Ha-ras-1 la inhibitorii citoscheletici. Transformarea cu oncogenul Ha-ras-1 nu numai că modifică răspunsurile celulare, ci și sporește stabilitatea microfilamentelor și a microtubulelor, modificând în consecință integritatea structurală a celulei. Aceste constatări subliniază rolul potențial al citoscheletului în menținerea formei și pluripotenței celulare, care este esențial atât în fiziologia normală, cât și în stările de boală care implică transformarea și diferențierea celulară.

Organism Șobolan

Tissue Ficat

Synonyms Buffalo Ficat de șobolan

Caracteristici

Breed/Subspecies Bivol

Morphology Epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation BRL (numărul de catalog Cytion 305193)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_4565

Celule BRL | 305193

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule BRL | 305193

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule BRL | 305193

**Storage
Conditions**

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.